

Andreas P. A. Wöhrmann, Institut für Polarökologie

Gefrierschutzproteine bei Fischen der Antarktis

In der letzten Ausgabe der "Mitteilungen zur Kieler Polarforschung" habe ich über die Gefrierschutzproteine bei *Pleuragramma antarcticum* berichtet. Dabei habe ich unter anderem ein bislang unbekanntes Glykoprotein vorgestellt, welches nur bei dem antarktischen Silberfisch nachgewiesen werden konnte. Heute möchte ich auf die anderen Arten des Weddellmeeres und Lasarewmeeres eingehen, die ich im Rahmen meiner Promotion auf den Gefrierschutz hin untersucht habe (WÖHRMANN & ZIMMERMANN 1992; WÖHRMANN 1993).

Die Gefrierschutzsubstanzen stellen einen bemerkenswerten Mechanismus der Kaltanpassung für Organismen dar, die in einer Umwelt nahe oder unterhalb des Gefrierpunktes leben. AFPs (Gefrierschutzproteine) und AFGPs (Gefrierschutzglykoproteine) aus Fischen der Polarmeere haben Biologen, Biochemiker und Biophysiker nicht nur wegen ihrer ungewöhnlichen Funktion interessiert, sondern auch wegen ihres Vorkommens in verschiedenen Fischordnungen an beiden Polen und wegen ihrer Diversität in der Biosynthese, der Primärstruktur und der Konformation. Obwohl gerade in den letzten Jahren viel über die makromolekularen Gefrierschutzsubstanzen geforscht worden ist, gibt es immer noch offene Fragen zur Biochemie/Biophysik (die Frage nach Interaktionen zwischen Gefrierschutzsubstanz und Eis), zur Molekulargenetik (die Frage nach dem Ursprung der AF(G)P) und zur Biotechnologie (die Frage nach der praktischen Anwendung).

Das Ziel meiner Arbeit war eine weiträumig angelegte quantitative und qualitative Analyse der Gefrierschutzsubstanzen von Fischarten der wichtigsten antarktischen Familien, sowohl der Notothenioidei, als auch nicht-notothenioider Arten. Dabei wurden die bisherigen Untersuchungen insoweit ergänzt, als daß nun ein sehr umfassendes Bild über das Vorkommen dieser Proteine in antarktischen Fischen vorliegt. Die qualitative und quantitative Zusammensetzung der Gefrierschutzglykoproteine variiert von Art zu Art stark (Tab. 1 und Abb. 1).

Bei *Trematomus pennellii*, die lebt vor allem in Schwammgesellschaften des flacheren Schelfs, wurden z.B. große Mengen AFGP (0.334% FRG) isoliert, während *Gobionotothen gibberifrons*, eine Art aus den subantarktischen Gewässern, weniger als ein Zehntel davon besitzt (0.027% FRG). Bei *Pagetopsis macropterus*, eine Art, die vor allem auf dem Schelf anzutreffen ist, bewirken die AFGPs eine maximale thermale Hysterese von 1.0°C, bei *Neopagetopsis ionah* dagegen, diese Art lebt in tieferem "wärmeren" Wasser, von nur 0.5°C. Das deutet auf eine Beziehung zwischen dem Gefrierpunkt des Blutes, d.h. der Temperatur, bei der der Fisch in der Anwesenheit von Eis gefriert und dem Lebensraum des Fisches hin. Die thermale Hysterese ist definiert als die Differenz von Schmelz- und Gefrierpunkt. D. h., Gefrierschutzproteine setzen den Gefrierpunkt einer Lösung herab, nicht aber den Schmelzpunkt, ganz im Gegensatz zu z. B. Salz oder Glycerin.

Die Konzentrationen dieser Substanzen werden entsprechend der Lebensweise nur auf die tatsächlich notwendige Temperaturtoleranz eingestellt. So ist bekannt, daß im selben Lebensraum (Rossmeer) der oberflächennah in ständigem Eiskontakt lebende *Pagothenia borchgrevinki* einen stärkeren Gefrierschutz unterhält als die Bodenarten *Trematomus hansonii*, *T. loennbergii* und *T. bernacchii*. Außerdem werden AF-GP-Moleküle bei den Notothenioidei nicht ausgeschieden, sondern durch aglomeruläre Nieren zurückgehalten (EASTMAN & DEVRIES 1986). Der physiologische Aufwand, der zur Rückhaltung dieser Moleküle getrieben wird, weist auf einen vermutlich aufwendigen Stoffwechselprozeß hin, der sich im Ruhesauerstoffverbrauch niederschlägt (HUBOLD 1991).

Wie aus Tabelle 1 hervorgeht, zeigen die meisten antarktischen Fischarten eine extreme Tiefenverbreitung (z.B. *Dolloidraco longedorsalis* > 2000 m). Zum Teil führen sie im Verlauf ihres Lebenszyklus vertikale Wanderungen durch (z.B. *P. antarcticum*), oder aber tagesperiodische (z.B. Myctophidae), zum Teil sind sie an verschiedenen geographischen Orten in unterschiedlichen Tiefen anzutreffen (*T. hansonii*: McMurdo < 100 m, Weddellmeer 200-300 m). Die Notothenioidei der vorliegenden Untersuchung kann man bezüglich ihres Vorkommens und ihrer AFGP-Konzentrationen in drei Gruppen einteilen (s.a. Abb. 1): Arten, die vorwiegend auf dem Schelf in flacherem Wasser (100 - 400 m) leben, besitzen viel AFGP (*T. pennellii*, *T. eulepidotus*, *Gymnodraco acuticeps*, *Chaenodraco wilsoni*, *Chionodraco hamatus*, *P. macropterus*). Arten der biomassenreichsten Zone am Kontinentalrand (400 - 600 m) im Weddellmeer und Lazarewmeer besitzen mittlere Mengen an AFGP (*T. lepidorhinus*, *T. loennbergi*, *Gerlachea australis*, *Racovitzia glacialis*, *Chionodraco myersi*, *Pagetopsis maculatus*, *Cryodraco antarcticus*, *Dacodraco hunteri* und die Artedidraconidae). Arten der tieferen Zonen des Kontinentalabhangs synthetisieren die geringsten Mengen (*Bathhydraco marri*, *N. ionah*, nicht-Notothenioidei).

Tab. 1: Zusammenfassung der im vergangenen Jahr gewonnenen Daten über Gefrierschutzsubstanzen aus Fischen der Antarktis. AF-Typ = Gefrierschutzsubstanz; AFGP = Gefrierschutzglykoprotein; PAGD = Pleuragramma-Gefrierschutzglykoprotein; AF II = Gefrierschutztyp II; TH = max. thermale Hysterese [°C] der Proteinlösung (20 mg/ml). Angaben zur min/max Tiefe [m], Verbreitung und Lebensweise stammen aus Heemstra & Gon (1990).

Fischart	AF-Typ	TH [°C]	Fangregion	Tiefe [m]	Ø Temp. [°C]	Verbreitung	Lebensweise
Nototheniidae							
Gobionotothen gibberifrons	AFGP	0.67	Elephant Island	5 - 750	-1/+1	Ant. Halbinsel	benthisch
Lepidonotothen kemp	AFGP	0.52	Lasarewmeer	100 - 900	-1.2	Circumpolar	benthisch
L. kemp	GP	?					
Aethotaxis mitopteryx	AFGP	0.89	Lasarewmeer	100 - 850	-1.9	Circumpolar	pelagisch
Pleuragramma antarcticum	AFGP	1.20	Weddellmeer	0 - 900	-1.9	Circumpolar	pelagisch
P. antarcticum	AFP ?	0.45					
P. antarcticum	PAGP	3.21					
P. antarcticum	Serum	1.07					
Dissostichus mawsoni	AFGP	1.10	Lasarewmeer	80 - 1600	-1.9	Circumpolar	pelagisch
Trematomus bernacchii	AFGP	1.01	Weddellmeer	100 - 700	-1.9	Circumpolar	benthisch
Trematomus eulepidotus	AFGP	1.02	Weddellmeer	70 - 550	-1.8	Circumpolar	benthopelagisch
Trematomus lepidorhinus	AFGP	0.97	Weddellmeer	200 - 900	-1.9	Circumpolar	benthopelagisch
Trematomus loennbergii	AFGP	0.95	Weddellmeer	60 - 830	-1.9	Circumpolar	benthopelagisch
Trematomus pennellii	AFGP	1.06	Lasarewmeer	0 - 730	-1.9	Circumpolar	benthisch
Artedidraconidae							
Artedidraco loennbergi	AFGP	0.85	Weddellmeer	230 - 600	-1.9	Circumpolar	benthisch
Dolloidraco longedorsalis	AFGP	0.81	Weddellmeer	200 - 2250	-1.9	Circumpolar	benthisch
D. longedorsalis	AF II	0.72					
Pogonophryne marmorata	AFGP	0.87	Weddellmeer	140 - 1400	-1.9	Circumpolar	benthisch
Pogonophryne scotti	AFGP	0.89	Weddellmeer	110 - 1200	-1.9	Circumpolar	benthisch
Bathydraconidae							
Bathydraco marri	AFGP	0.85	Weddellmeer	300 - 1250	-1.9	Circumpolar	benthisch
B. marri	AF II	0.84					
Gymnodraco acuticeps	AFGP	0.90	Weddellmeer	0 - 550	-1.9	Circumpolar	benthisch
Gerlachea australis	AFGP	0.84	Weddellmeer	200 - 670	-1.9	Circumpolar	benthisch
Racovitza glacialis	AFGP	0.84	Weddellmeer	220 - 610	-1.9	Circumpolar	benthisch
Channichthyidae							
Chaenodraco wilsoni	AFGP	0.57	Weddellmeer	200 - 800	-1.9	Circumpolar	benthopelagisch
Chionodraco hamatus	AFGP	0.80	Weddellmeer	0 - 600	-1.9	Circumpolar	benthopelagisch
Chionodraco myersi	AFGP	0.89	Weddellmeer	200 - 800	-1.9	Circumpolar	benthopelagisch
Cryodraco antarcticus	AFGP	0.65	Weddellmeer	200 - 800	-1.9	Circumpolar	benthopelagisch
Dacodraco hunteri	AFGP	1.00	Lasarewmeer	300 - 800	-1.9	Circumpolar	pelagisch
Neopagetopsis ionah	AFGP	0.52	Weddellmeer	20 - 900	-1.9	Circumpolar	benthopelagisch
Pagetopsis maculatus	AFGP	0.94	Weddellmeer	200 - 800	-1.9	Circumpolar	benthisch
Pagetopsis macropterus	AFGP	0.97	Weddellmeer	0 - 650	-1.9	Circumpolar	benthisch
Muraenolepididae							
Muraenolepis marmoratus	AF(G)P	0.56	Lasarewmeer	20 - 1600	≈ +0.5	Subantarktis	benthisch
Zoaridae							
Lycenchelys hureaui	AF(G)P	≈ 0.1	Lasarewmeer	560 - 940	≈ +0.5	Kerguelen	benthisch
Liparidae							
Paraliparis somovi	AF(G)P	0.54	Lasarewmeer	400 - 850	≈ +0.5	Süd-Shetland	pelagisch
Myctophidae							
Gymnoscopelus opisthopterus	AF(G)P	≈ 0.1	Lasarewmeer	≥ 500	≈ +0.5	Circumpolar	pelagisch
Macrouridae							
Macrourus holotrachys	AF(G)P	≈ 0.1	Lasarewmeer	150 - 1100	≈ +0.5	Magellan	benthopelagisch
Rajidae							
Bathyraja maccaini	???	0	Lasarewmeer	≈ 500	-1/+1	Circumpolar	benthisch

Neben den Notothenioidei kommen in der Antarktis u.a. noch Vertreter der Zoarcidae, Liparidae, Muraenolepididae, Macrouridae, Myctophidae und Rajidae vor. Viele nicht-notothenioide Fische sind entweder in der Subantarktis oder im wärmeren Tiefenwasser des Kontinents verbreitet. Betrachtet man die Verbreitungskarte der Fische im Weddellmeer, so fällt auf, daß der Anteil nicht-notothenioider Arten nach Süden hin abnimmt, bzw. in die Tiefe zunimmt (HUBOLD 1991). Diese Arten meiden kaltes Wasser.

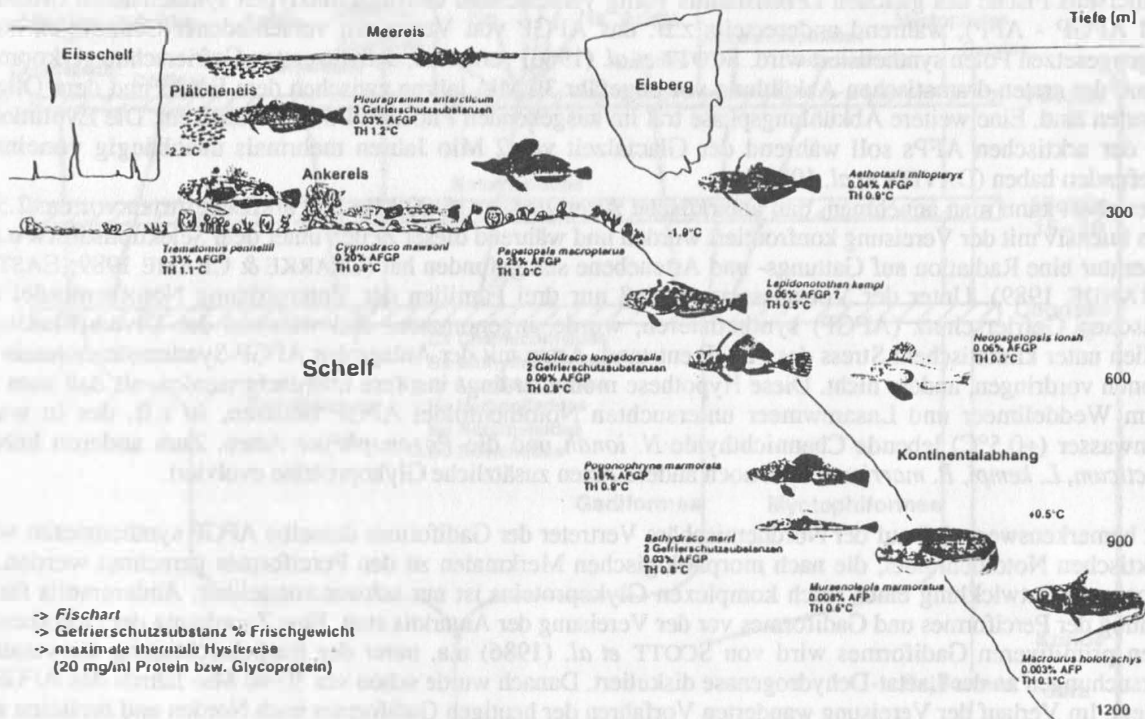


Abb. 1: Schematische Darstellung eines Profils des Weddellmeeres und der untersuchten Fischarten, ihrem bevorzugten Lebensraum zugeordnet. Gezeigt ist der Lebensraum Schelf und Schelfabhäng. Unter den Fischezeichnungen sind der Artname, die Gefrierschutz-Menge (% FRG Frischgewicht) und die maximale thermale Hysterese der Gefrierschutzsubstanzen (20 mg/ml) angegeben.

Bislang war unter den nicht-Notothenioidei nur von den antarktischen Zoarciden *Lycodichthys dearborni* und *Pachycara brachycephalum* bekannt, daß sie Gefrierschutz besitzen. Aus Gründen der Verbreitung nicht-notothenioider Fische in tieferem bzw. wärmeren Wasser wurde angenommen, daß die meisten Arten keinen Gefrierschutz benötigen. Bei meinen Untersuchungen konnten bei einem Lipariden, Muraenolepididen, Macrouriden und Myctophiden Gefrierschutzsubstanzen nachgewiesen werden (Tab. 1 und Abb. 1). Dies bedeutet gleichzeitig, daß alle hier untersuchten Teleostei der Antarktis Gefrierschutzproteine synthetisieren. Diese Substanzen sind also viel weiter verbreitet als bislang angenommen, was wiederum Konsequenzen für die Entstehungsgeschichte hat (siehe unten). So vermute ich auch (entgegen der bislang gültigen Hypothese), daß alle antarktischen Teleostei auf Grund ihrer hochantarktischen und circumpolaren Verbreitung Gefrierschutz besitzen dürften. Hinzu kommt, daß viele Larvenstadien auch in der Hochantarktis in oberflächennahem Wasser vorkommen. Ein Kontakt mit Eis ist nicht ausgeschlossen, eine Synthese von Gefrierschutz notwendig.

Die Proteine, die marine Teleostei für den Gefrierschutz synthetisieren, zeigen eine erstaunlich hohe Diversität. Dieses bekannte Phänomen konnte durch meine Arbeiten eindeutig bestätigt werden. In nicht-notothenioiden Fischen der Antarktis und Fischen der Arktis konnten verschiedene Gefrierschutzproteine (AFP I - III) nachgewiesen werden, die keinen Zuckeranteil besitzen. Sie zeigen zum großen Teil eine geringere Gefrierschutzaktivität als die Glykoproteine. Hinzu kommen die oben beschriebenen AFGP der arktischen Gadidae und antarktischen Notothenioidei. Schließlich wurde das PAGP als Gefrierschutz bei *P. antarcticum* beschrieben, weitere bislang unbekannte Substanzen bei *P. antarcticum* (AF II), *Lepidonotothen kempfi* (AF I), *B. marri* (AF II), *Paraliparis somovi* (AF I), *Muraenolepis marmoratus* (AF I) und *Gymnoscopelus opisthopterus* (AF I) konnten ebenfalls als Proteine identifiziert werden, die eine thermale Hysterese auslösen.

Der Versuch, die verschiedenen Gefrierschutztypen mit den phylogenetischen Beziehungen der jeweiligen Art und ihrer zoogeographischen Verbreitung zu korrelieren, führt zu etlichen Widersprüchen (Abb. 2). Die bisher beschriebenen Gefrierschutzsubstanzen sind auf 7 Unterordnungen verteilt. Berücksichtigt man die noch nicht charakterisierten Substanzen, ergeben sich 9 Unterordnungen bzw. 3 Klassen. Schon DEVRIES (1983) stellte fest, daß einerseits Fische des gleichen Lebensraums völlig verschiedene Gefrierschutztypen synthetisieren (McMurdo Sound AFGP - AFP), während andererseits z.B. das AFGP von Vertretern verschiedener Ordnungen an den entgegengesetzten Polen synthetisiert wird. SCOTT *et al.* (1986) vermuten, daß die ersten Gefrierschutzglykoproteine während der ersten dramatischen Abkühlung vor ungefähr 30 Mio Jahren zwischen dem Eozän und dem Oligozän entstanden sind. Eine weitere Abkühlungsphase trat im ausgehenden Pliozän (4-5 Mio Jahre) ein. Die Evolution vor allem der arktischen AFPs soll während der Glacialzeit vor 2 Mio Jahren mehrmals unabhängig voneinander stattgefunden haben (DAVIES *et al.* 1988).

Als gesichert kann man annehmen, daß antarktische Arten vor ca. 15-20 Mio und arktische Arten vor ca. 2.5 Mio Jahren intensiv mit der Vereisung konfrontiert wurden und während dieser Zeiten unter dem Selektionsdruck u.a. der Temperatur eine Radiation auf Gattungs- und Artenebene stattgefunden hat (CLARKE & CRAME 1989; EASTMAN & GRANDE 1989). Unter der Voraussetzung, daß nur drei Familien der Unterordnung Notothenioidei einen identischen Gefrierschutz (AFGP) synthetisieren, wurde angenommen, daß während der Diversifikation der Familien unter klimatischem Stress das AFGP entstand. Arten mit der Anlage zur AFGP-Synthese konnten in kalte Regionen vordringen, andere nicht. Diese Hypothese muß allerdings insofern überdacht werden, als daß zum einen alle im Weddellmeer und Lasarewmeer untersuchten Notothenioidei AFGP besitzen, so z.B. der in warmen Tiefenwasser (+0.5°C) lebende Channichthyide *N. ionah* und die *Pogonophryne* Arten. Zum anderen haben *P. antarcticum*, *L. kemp*i, *B. marri* und evtl. noch andere Arten zusätzliche Glykoproteine evolviert.

Es ist bemerkenswert, daß auf der Nordhemisphäre Vertreter der Gadiformes dasselbe AFGP synthetisieren wie die antarktischen Notothenioidei, die nach morphologischen Merkmalen zu den Perciformes gerechnet werden. Eine konvergente Entwicklung eines solch komplexen Glykoproteins ist nur schwer vorstellbar. Andererseits fand die Trennung der Perciformes und Gadiformes vor der Vereisung der Antarktis statt. Eine Zuordnung der Notothenioidei zu den primitiveren Gadiformes wird von SCOTT *et al.* (1986) u.a. unter der Berücksichtigung enzymatischer Untersuchungen an der Lactat-Dehydrogenase diskutiert. Danach wurde schon vor 30-40 Mio Jahren das AFGP-Gen angelegt. Im Verlauf der Vereisung wanderten Vorfahren der heutigen Gadiformes nach Norden und breiteten sich in der Arktis aus, wo sie die dominierende Ordnung darstellen, ebenso wie die Notothenioidei in der Antarktis.

EASTMAN & GRANDE (1989) halten gegen die Hypothese von SCOTT *et al.* (1986), daß während der ersten Abkühlung im Eozän/Oligozän das Wasser zu warm (5° - 7°C) war, als daß eine Entwicklung von Gefrierschutzsubstanzen nötig gewesen wäre. Die Anlagen zum AFGP hätten sich demnach erst in den letzten 10 Mio Jahren während der Abkühlungsphase im Miozän auf Grund der Wassertemperaturen nahe dem Gefrierpunkt entwickelt. Während der letzten Abkühlungsphase im Pliozän hätte dann eine starke Radiation nur der notothenioiden Arten stattgefunden, die AFGP synthetisieren. EASTMAN & GRANDE (1989) beriefen sich dabei auf ältere Untersuchungen, wonach Gefrierschutz nur in einigen Notothenioiden (15 Arten) vorkommt.

SCOTT *et al.* (1986) plädieren bei den Zoarcidae und Liparididae für eine Wanderung in Süd-Nordrichtung. Danach wurde der Gefrierschutz während der ersten Abkühlungsphasen im Südpolarmeer entwickelt (siehe AFGP der Notothenioidei), und erst später nach Norden eingeführt. Eine hohe Übereinstimmung konnte bei der Primär- und Sekundärstruktur des AFP III des arktischen Zoarciden *Macrozoarces americanus* und der antarktischen *L. dearborni* und *P. brachycephalum* nachgewiesen werden. Auch deutet sich an, daß *Lycenchelys hurai* ein ähnliches AFP besitzt. Andere Autoren (in KOCK 1992) gehen allerdings von einer Verbreitung in Nord-Südrichtung aus. Die Gattung *Lycenchelys* z.B. hat vermutlich ihren Ursprung in der tropischen Zoarcidenfauna des Miozän. Die Entwicklung eines Gefrierschutzes hätte demnach erst im Pliozän eingesetzt.

Unter Berücksichtigung der neueren Erkenntnisse sind nun bei 38 notothenioiden und 7 nicht-notothenioiden Arten der Antarktis Gefrierschutzsubstanzen nachgewiesen worden, auch bei Arten wärmerer (> 0°C) subantarktischer und tiefer Gewässer. Auch Vertreter der bipolaren Scorpaeniformes und Zoarcidae besitzen Gefrierschutzproteine.

Dies Resultat erstaunt um so mehr, als daß es sich bei dem antarktischen Vertreter, *P. somovi*, um einen Lipariden handelt, der aus dem Gebiet der Süd-Shetlands aus Tiefen von 400 - 850 m bekannt ist. Der Zoarcide *L. hureaui*, bekannt von den Kerguelen in Wassertiefen zwischen 560 - 940 m, besitzt AFP, zumindest die Exemplare aus dem Lasarewmeer. Gleiches gilt für *M. marmoratus* (Gadiformes), die ein Gefrierschutzprotein mit einer ausgeprägten thermalen Hysterese synthetisiert, wie sie bislang nur bei *P. antarcticum* nachgewiesen werden konnte. Bei *M. holotrachys* (Macrouriformes) und *G. opisthopterus* (Myctophiformes) deutet sich an, daß sie AFP-ähnliche Substanzen in geringen Mengen synthetisieren. Akzeptiert man die Vermutung von EASTMAN & GRANDE (1989), daß sich Gefrierschutzsubstanzen erst in den letzten 10 Mio Jahren entwickelt haben, so müßten sie im Laufe der Evolution mehr als 12 mal entstanden sein.

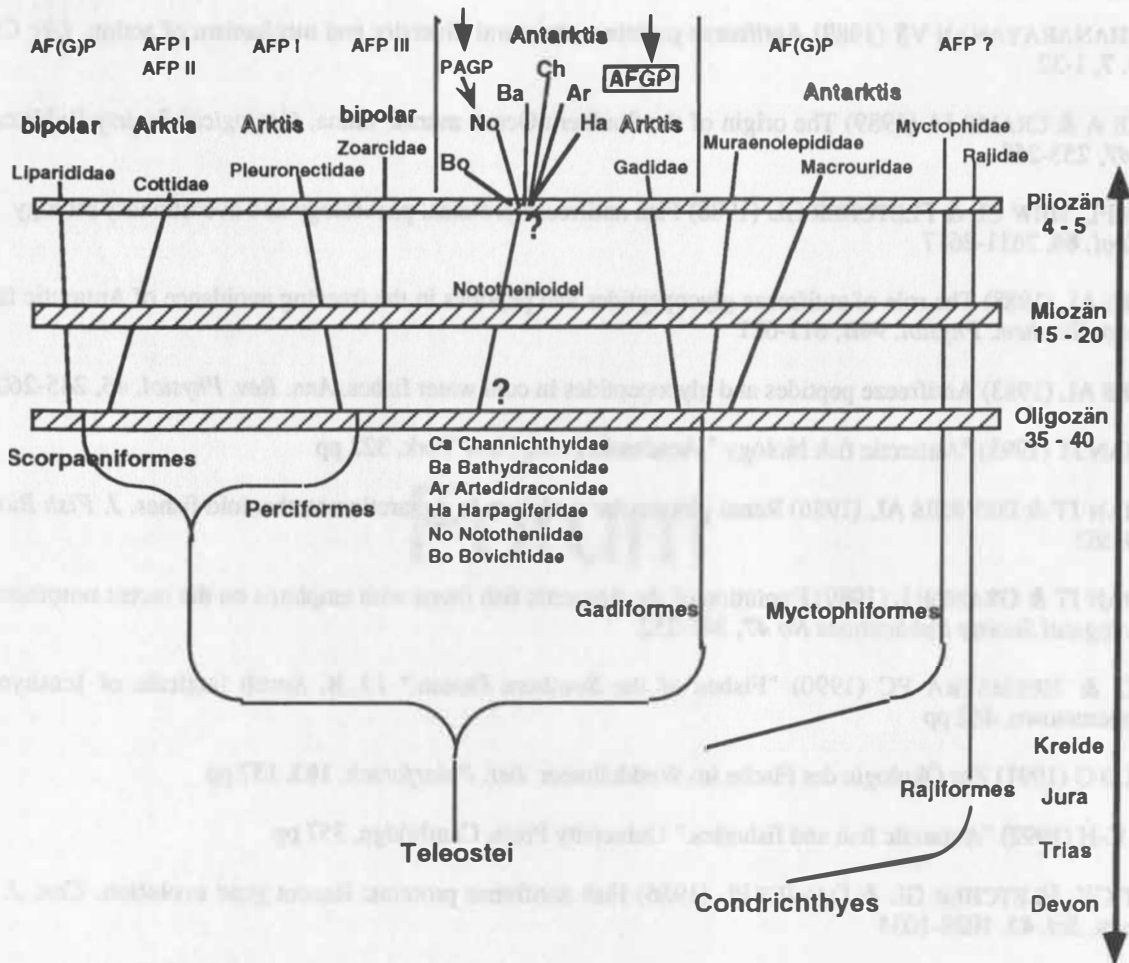


Abb. 2: Schematische Darstellung der phylogenetischen Beziehungen rezenter Fischordnungen, die Gefrierschutzsubstanzen synthetisieren. Die Daten wurden zusammengetragen aus der vorliegenden Untersuchung, CLARKE & CRAME (1989), EASTMAN & GRANDE (1989), EASTMAN (1993), SCOTT *et al.* (1986). Die schraffierten Flächen bezeichnen die drei Abkühlungsphasen im Oligozän, Miozän und Pliozän. Die Begriffe Antarktis, Arktis und bipolar wurden denjenigen Familien zugeordnet, deren Vertreter in der jeweiligen Region Gefrierschutz synthetisieren. Abgegrenzt sind die Familien, deren Vertreter AFGP synthetisieren (Gadidae; Familien der U-Ordnung Notothenioidei).

Abschließend läßt sich also sagen: (1) Das AFGP ist innerhalb der Notothenioidei weiter verbreitet als bislang angenommen. Auch Arten, die wahrscheinlich nicht mit sehr kaltem Wasser oder sogar Eis in Kontakt kommen, besitzen diese Gefrierschutzsubstanzen. (2) Der Nachweis von sehr ähnlich gebauten und auf dem selben Mechanismus beruhenden Gefrierschutzsubstanzen bei fast allen antarktischen (fraglich bei *Bathyrāja*) und einigen arktischen sowie nord-borealen Arten aus phylogenetisch wenig verwandten Taxa läßt vermuten, daß diese (Glyko)proteine sich vor sehr langer Zeit aus einem "Ur"-Gefrierschutzprotein (Lektine, Blutproteine, etc.) entwickelt haben, also eine Präadaptation stattfand, und bei einigen rezenten Arten als Relikt vergangener Eiszeiten gewertet werden müssen. Ein polyphyletischer Ursprung ist eher unwahrscheinlich. (3) Die Isolierung und Charakterisierung des PAGP hat gezeigt, daß das AFGP nicht das einzige Glykoprotein ist, welches eine thermale Hysterese auslösen kann. Außerdem deutet sich an, daß die Mechanismen zur Verhinderung der Eisbildung vielfältiger sind, als bislang angenommen.

Literatur

- ANANTHANARAYANAN VS (1989) Antifreeze proteins: structural diversity and mechanism of action. *Life Chem. Rep.* **7**, 1-32
- CLARKE A & CRAME JA (1989) The origin of the Southern Ocean marine fauna. *Geological Society Publications No 47*, 253-268
- DAVIES PL, HEW CL & FLETCHER GL (1988) Fish antifreeze proteins: physiology and evolutionary biology. *Can. J. Zool.* **66**, 2611-2617
- DEVRIES AL (1988) The role of antifreeze glycopeptides and peptides in the freezing avoidance of Antarctic fishes. *Comp. Biochem. Physiol.* **90B**, 611-621
- DEVRIES AL (1983) Antifreeze peptides and glycopeptides in cold water fishes. *Ann. Rev. Physiol.* **45**, 245-260
- EASTMAN JT (1993) "Antarctic fish biology." Academic Press, New York, 322 pp
- EASTMAN JT & DEVRIES AL (1986) Renal glomerular evolution in Antarctic notothenioid fishes. *J. Fish Biol.* **29**, 649-662
- EASTMAN JT & GRANDE L (1989) Evolution of the Antarctic fish fauna with emphasis on the recent notothenioids. *Geological Society Publications No 47*, 241-252
- GON O & HEEMSTRA PC (1990) "Fishes of the Southern Ocean." J.L.B. Smith Institute of Ichthyology, Grahamstown, 462 pp
- HUBOLD G (1991) Zur Ökologie der Fische im Weddellmeer. *Ber. Polarforsch.* **103**, 157 pp
- KOCK K-H (1992) "Antarctic fish and fisheries." University Press, Cambridge, 357 pp
- SCOTT GK, FLETCHER GL & DAVIES PL (1986) Fish antifreeze proteins: Recent gene evolution. *Can. J. Fish. Aquat. Sci.* **43**, 1028-1034
- WÖHRMANN APA & ZIMMERMANN C (1992) Comparative investigations on fishes of the Weddell Sea and the Lazarev Sea. *Ber. Polarforsch.* **100**, 208-223
- WÖHRMANN APA (1993) Gefrierschutz bei Fischen der Polarmeere. *Ber. Polarforsch.* **119**, 99 pp